ПАРАЗИТОЛОГИЯ, 25, 6, 1991

УДК 576.895.121 : 577.114

© 1991

ГИДРОЛИЗ И ТРАНСПОРТ САХАРОВ У ЦЕСТОДЫ CARYOPHYLLAEUS LATICEPS И В КИШЕЧНИКЕ ЕЕ ХОЗЯИНА—ЛЕЩА

Г. И. Извекова, В. В. Кузьмина

Изучены особенности гидролиза углеводов и механизмов транспорта глюкозы у цестоды *C. laticeps* и в кишечнике ее хозяина — леща. Установлено значительное влияние ферментов хозяина на способность паразитов к гидролизу полисахаридов, а также существование систем активного транспорта глюкозы у изученных цестод, превосходящих по эффективности абсорбционные системы хозяев.

Изучение взаимоотношения между паразитом и хозяином, включая и пищевые отношения между ними, — одно из новых направлений современной паразитологии. В связи с этим важное значение приобретает сравнительное изучение пищеварительных и транспортных систем у паразитов и их хозяев, особенно у цестод, не имеющих пищеварительной системы. Известно, что в тегументе цестод имеются различные ферменты, участвующие в мембранном пищеварении (Pappas, Narcisi, 1982), в том числе α-амилаза, адсорбированная из кишечника хозяина (Taylor, Thomas, 1968; Read, 1973, и др.). Однако большинство имеющихся данных касается высших цестод, обитающих в кишечнике различных млекопитающих, сведения о низших цестодах из рыб крайне ограничены (Кузьмина, Куперман, 1983). Роль мембранных и полостных ферментов в процессах гидролиза сахаров у цестод *C. laticeps* и их хозяина—леща ранее не исследовалась.

Транспортные процессы, протекающие у цестод, паразитирующих в пищеварительном тракте млекопитающих, исследованы достаточно детально, в частности, изучена кинетика поглощения некоторых мономеров, в том числе глюкозы (Pappas, Read, 1975). Однако параллельное изучение абсорбции нутриентов у паразитов и их хозяев не проводилось. Цестоды *C. laticeps* широко распространены в природе, и выяснение вопросов, касающихся их пищевых взаимоотношений с хозяином, представляет не только теоретический, но и практический интерес.

Целью данной работы явилось исследование некоторых характеристик гидролиза и транспорта сахаров параллельно у цестоды *C. laticeps* и в кишечнике леща, в частности определение адсорбционных характеристик гидролитических ферментов, принимающих участие в мембранном пищеварении, механизмов и кинетики транспорта свободной глюкозы (Г-глюкоза) и глюкозы, образующейся в результате гидролиза крахмала (К-глюкоза) и мальтозы (М-глюкоза).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектом исследований служили цестоды *Caryophyllaeus laticeps* из кишечника леща *Abramis brama* (L.) Рыбинского водохранилища. Материал собран в летний период. Для изучения прочности фиксации карбогидраз на поверхности щеточной каймы энтероцитов рыб и у гельминтов использовали метод последовательной десорбции ферментов с отрезков кишки (Кузьмина, 1976) в сочетании с определением общей амилолитической активности в получаемых фракциях. Общую амилолитическую активность определяли по приросту гексоз модифицированным методом Нельсона (Уголев, Иезуитова, 1969). В качестве субстрата использовали 1.8 %-ный раствор растворимого крахмала, приготовленный на растворе Рингера для холоднокровных животных, pH 7.4. Скорость гидролиза крахмала выражали в ммоль глюкозы за 60 мин инкубации ферментативно активного препарата и субстрата в расчете на 100 мг навески ткани (в тексте — условные единицы, усл. ед.). Интенсивность аккумуляции глюкозы определяли по накоплению гексоз за 60 мин инкубации в расчете на 100 мг сырой массы гельминтов и выражали в ммоль глюкозы (Извекова, 1988).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Особенности адсорбции карбогидраз на поверхности цестод и на отрезках кишки рыб. Как известно, метод десорбции ферментов с пищеварительно-транспортных поверхностей позволяет получить количественную и качественную характеристики процессов мембранного пищеварения. Данные о динамике десорбции карбогидраз с пищеварительно-транспортных поверхностей *C. laticeps* и леща представлены на рис. 1. Суммарная активность всех фракций у червей составила 9.54±0.57, а у леща — 18.41±3.67 усл. ед. Активность полученных фракций у тех и у других заметно снижается в ряду $Д_1$—$Д_8$, причем у червей по сравнению с рыбами получено меньше ферментативно активных фракций (6 и 8 соответственно). Активность фракции $Д_1$ у *C. laticeps* несколько

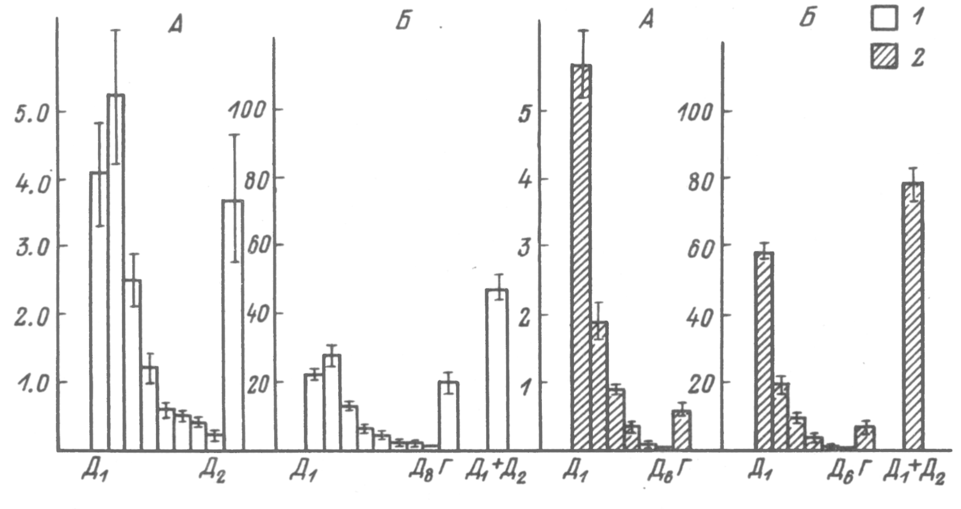

Рис. 1. Общая амилолитическая активность ферментов, десорбированных с пищеварительно-транспортных поверхностей леща (*1*) и *C. laticeps* (*2*).

По оси абсцисс: фракции $Д_1$—$Д_8$ — активность десорбируемых ферментов, *Г* — активность гомогената; по оси ординат: *А* — общая амилолитическая активность, усл. ед., *Б* — активность ферментов, в процентах от суммарной активности препарата.

Fig. 1. General amylolytic activity of enzymes, desorbed from digestive-absorbtive surface of bream and *C. laticeps*.

выше, чем у леща (5.67±0.53 и 4.1±0.81 усл. ед. соответственно), все последующие фракции у гельминтов имеют значительно меньшую активность, чем в слизистой кишечника рыб. Активность легко десорбируемых фракций у цестод составила около 80 %, в то время как у рыб — меньше 50 %. В то же время активность гомогената слизистой кишечника рыб в 6 раз превышает активность гомогената цестод (3.69±0.93 и 0.63±0.13 усл. ед. соответственно). Такое распределение активности карбогидраз по фракциям может свидетельствовать о способности червей адсорбировать ферменты кишечника хозяина и использовать их в жизнедеятельности.

Поскольку слизистая кишечника адсорбирует на своей поверхности панкреатическую α-амилазу (Кузьмина, 1986), данные по десорбции карбогидраз дают возможность предположить, что общая амилолитическая активность проб обусловлена именно этим ферментом. Ранее было показано, что цестоды не имеют собственной амилолитической активности, но способны адсорбировать α-амилазу хозяина, что усиливает гидролитическую функцию и позволяет рассматривать тегумент как пищеварительно-транспортную поверхность (Аркинд, Раева, 1971; Taylor, Thomas, 1968; Read, 1973). Исходя из этого можно предположить, что фракции $Д_1$—$Д_6$, полученные при изучении цестод, содержат ферменты леща, с различной степенью прочности адсорбированные тегументом.

В имеющейся литературе по углеводному обмену гельминтов нет сообщений о наличии в тканях этих организмов каких-либо амилаз (Ward, 1982; Сопрунов, 1984). Однако имеются сведения о функционировании в тканях цестод и, в частности, в тегументе различных олигосахаридаз (Mocsôn, 1980). Основываясь на этих данных, можно предположить, что активность фракции гомогената у исследованных цестод может складываться из активностей этих олигосахаридаз и адсорбированной из кишечника α-амилазы, прочно связанной с поверхностью червей.

Приведенные данные подтверждают вероятность осуществления заключительных этапов гидролиза углеводов на поверхности тела ленточных червей и свидетельствуют об участии в усвоении пищи процессов мембранного пищеварения. Это указывает на определенное сходство процесса пищеварения у гельминтов и их хозяев — рыб.

Осуществление заключительных этапов гидролиза полисахаридов на поверхности тегумента, очевидно, дает цестодам кинетические преимущества для абсорбции нутриентов. В литературе имеются данные, что *H. diminuta* в кишечнике крыс, питающихся крахмалом, растет вдвое быстрее, чем в кишечнике крыс, питающихся глюкозой (Read, Rothman, 1957). На основании этих и других исследований было выдвинуто предположение, что свободная глюкоза быстрее абсорбируется хозяином и является поэтому невыгодным источником питания для паразита, тогда как ферментативный гидролиз крахмала включает мембранное пищеварение на пищеварительно-транспортных поверхностях, и поэтому крахмал является более выгодным источником глюкозы для обоих организмов (Taylor, Thomas, 1968). Не исключено, что преимущества связаны также с отсутствием микрофлоры в зоне тегумента, которая является серьезным конкурентом в борьбе за мономеры.

Способность цестод гидролизовать нутриенты с помощью собственных и адсорбированных ферментов подтверждает представление о наличии у этих организмов такого механизма гидролиза, как мембранное пищеварение, обнаруженное ранее у различных групп позвоночных и беспозвоночных животных (Уголев, 1963, 1985).

Таким образом, изучение десорбционных характеристик карбогидраз, функционирующих на пищеварительно-транспортных поверхностях рыб и паразитирующих в них цестод, позволило установить значительное влияние ферментов хозяина на характеристики ферментных систем паразита, выражающееся в общих закономерностях динамики этого процесса у рыб и гельминтов. Результаты исследования дают основание заключить, что паразитические черви используют для осуществления процессов мембранного пищеварения адсорбированные из полости кишечника ферменты, что позволяет им успешно конкурировать с хозяином за продукты гидролиза. Полученные данные свидетельствуют также о значительном функциональном сходстве тегумента цестод с кишечным эпителием позвоночных животных, наряду с морфологическим сходством (Куперман, 1988).

Особенности транспорта сахаров у цестоды *C. laticeps* и соотношение этих процессов у гельминтов и рыб. Фаза развития *C. laticeps*, связанная с лещом, протекает в основном в летние месяцы и сопровождается созреванием гонад. В связи с этим *C. laticeps* в соответствии с их физиологическим состоянием были разделены на 2 группы: 1-я — незрелые черви с формирующимися гонадами из кишечников лещей, отловленных в июне, 2-я — половозрелые черви из кишечников лещей, отловленных в июле. При анализе полученных транспортных характеристик между этими группами червей были обнаружены резкие различия. Несмотря на то что абсорбция глюкозы у обеих групп червей носит характер типичной кинетики насыщения, черви 1-й группы аккумулируют глюкозу примерно в 3 раза интенсивней, чем особи 2-й группы (рис. 2). Накопление глюкозы против градиента концентрации цестодами *C. laticeps* наблюдается при содержании ее в среде от 0.1 до 5 ммоль для 1-й группы червей и от 0.1 до 2.5 ммоль для 2-й группы червей.

Полученные данные свидетельствуют о зависимости интенсивности аккумуляции глюкозы от физиологического состояния гельминтов. Поскольку накопление глюкозы у *C. laticeps* следует кинетике насыщения, можно предположить, что она поступает в организм изученных цестод в основном путем активного транспорта. Это позволило определить константы абсорбции: $V_{\max}$ — максимальную скорость транспорта и K_t — константу Михаэлиса для транспортных

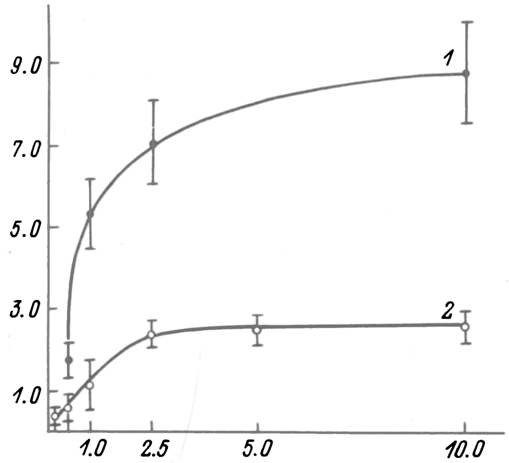

Рис. 2. Интенсивность аккумуляции глюкозы в зависимости от ее концентрации в среде цестодой *C. laticeps*.

По оси абсцисс — концентрация глюкозы в среде, ммоль; по оси ординат — интенсивность поглощения глюкозы, ммоль; *1* — черви 1-й группы; *2* — черви 2-й группы.

Fig. 2. The velocity of glucose uptake (mmoles/100mg wt/hr) as a function of glucose concentration (mmoles).

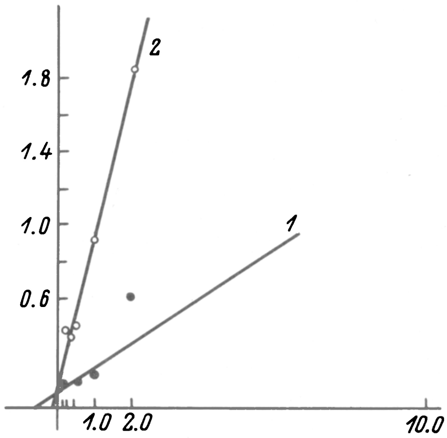

Рис. 3. Кинетика интенсивности поглощения глюкозы цестодой *C. laticeps*.

По оси абсцисс — величина, обратная концентрации глюкозы в среде; по оси ординат — величина, обратная интенсивности поглощения.

Остальные обозначения те же, что на рис. 2.

Fig. 3. Kinetic parameters describing carbohydrate absorption in *C. laticeps*.

Интенсивность транспорта различных форм глюкозы у цестоды *C. laticeps* и в кишечнике леща

Uptake of various forms of glucose by *C. laticeps* and in the intestine of bream

Форма глюкозы	Концентрация субстрата, ммоль	*C. laticeps*	Лещ
Г-	2.5	7.02±1.07	1.20±0.32
	10	8.71±1.41	3.68±0.74
М-	1.25	5.92±3.95	1.27±0.41
	5.0	6.81±1.61	2.87±0.71
К-	2.5	2:31±0.70	0.59±0.13
	10	3.03±1.93	1.11±0.17

процессов. Константы транспорта глюкозы были определены для обеих возрастных групп червей (рис. 3). В результате вычисления этих характеристик установлено, что $V_{\max}$ для 1-й группы в 2 раза больше, чем для 2-й (11.1 и 5.56 ммоль соответственно), в то же время K_t для 1-й группы в 4 раза меньше, чем для 2-й (1.25 и 5 ммоль соответственно), следовательно, сродство транспортной системы к глюкозе у 1-й группы червей выше, чем у 2-й. Это также свидетельствует о том, что молодые черви транспортируют глюкозу активнее, чем гельминты со сформированными гонадами.

Исследование поглощения различных форм глюкозы цестодами *C. laticeps* позволило установить, что налюдаемые закономерности характерны для всех форм глюкозы. Так, например, при концентрации в среде мальтозы 5 ммоль неполовозрелые гельминты аккумулируют 6.84±1.61 ммоль, а черви со сформированными гонадами всего 1.58±0.68 ммоль М-глюкозы, для К-глюкозы эти значения составляют 3.03±1.93 и 0.66±0.38 ммоль для 1-й и 2-й групп соответственно. Кроме того, важно отметить возможность противоградиентного накопления М-глюкозы червями 1-й группы.

Для сравнения транспортных процессов, протекающих у гельминтов и их хозяев — рыб, была проведена серия экспериментов по исследованию интенсивности аккумуляции различных форм глюкозы у цестод 1-й группы *C. laticeps* и в кишечнике их хозяина — леща. Эти исследования позволили установить, что накопление глюкозы в тканях гельминтов при исследованных концентрациях для всех субстратов выше, чем в слизистой кишечника леща, в 2—7 раз (см. таблицу). В слизистой кишечника леща ни при каких исследованных условиях не наблюдалось противоградиентного накопления глюкозы. В то же время в тканях цестод при меньшей концентрации субстратов (2.5 ммоль) происходила противоградиентная аккумуляция всех форм глюкозы, а при больших (10 ммоль) — М-глюкозы. Этот факт свидетельствует о поступлении глюкозы в ткани гельминтов путем активного транспорта. Как в слизистой кишечника рыб, так и в тканях цестод наиболее интенсивно аккумулируется М- и Г-глюкоза. Следовательно, в тканях цестод *C. laticeps* глюкоза аккумулируется значительно интенсивнее, чем в слизистой кишечника леща, причем при низких концентрациях субстрата преимущества транспорта глюкозы у гельминтов выражены сильнее. Накопление глюкозы в тканях гельминтов и рыб при использовании в качестве субстратов крахмала и мальтозы может указывать на сопряженный характер процессов гидролиза и транспорта углеводов. Ранее возможность сопряжения этих процессов была установлена для различных позвоночных животных, в том числе и рыб (Уголев, Иезуитова, 1985; Кузьмина и др., 1986), что также свидетельствует о сходстве функциональной организации пищеварительно-транспортной поверхности кишечника рыб и покровов паразитирующих в них гельминтов.

При замене в инкубационной среде ионов Na^+ на ионы K^+ аккумуляция глюкозы у *C. laticeps* подавляется на 84—86 %, что согласуется с данными ряда авторов, показавших почти полное ингибирование активного компонента транспорта глюкозы у различных видов цестод в сходных условиях. При исследовании механизмов транспорта в слизистой кишечника леща установлено наличие активного Na^+-зависимого компонента, доля которого для разных форм глюкозы различна и колеблется от 3 до 32 % (Извекова, Кузьмина, 1988). Наличие Na^+-зависимых механизмов транспорта глюкозы у цестод и в тканях кишечника позвоночных животных является, по мнению ряда авторов, наиболее важным доказательством сходства транспортных процессов у этих групп животных (Pappas, Read, 1975).

Итак, в результате проведенных исследований установлен ряд общих закономерностей для транспортных процессов у изученных цестод и их хозяев — рыб, а также особенности, обусловленные различной структурно-функциональной организацией исследованных животных. Так, данные, касающиеся интенсивности аккумуляции глюкозы в среде, содержащей крахмал и мальтозу, позволяют предположить существование сопряжения процессов гидролиза и транспорта на поверхности тегумента, что хорошо согласуется с представлениями о сопряжении этих процессов в кишечнике их хозяев — рыб (Кузьмина и др., 1986) и указывает на сходство процессов пищеварения у паразитов и их хозяев.

Однако, несмотря на близость механизмов транспорта сахаров у гельминтов и рыб, у *C. laticeps* интенсивность аккумуляции значительно выше, чем у леща, причем, как и у высших позвоночных животных, у гельминтов преобладают механизмы активного транспорта.

Основные закономерности гидролиза и транспорта углеводов у цестод и в кишечнике их хозяев — рыб. Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что на поверхности кишечника леща по сравнению с тегументом *C. laticeps* гидролиз углеводов протекает значительно интенсивнее. Это выражается в более высокой ферментативной активности и большей прочности фиксации ферментов на пищеварительно-транспортной поверхности у леща по сравнению с *C. laticeps*. Большую роль при этом играют полостные ферменты, слабо связанные с пищеварительно-транспортными поверхностями. Интересно отметить, что в ряде случаев активность легко десорбируемых фракций у цестод превосходит таковую у рыб, что может свидетельствовать о меньшей прочности фиксации ферментов на их тегументе, а также об использовании паразитами ферментов хозяев и возможности осуществления гидролиза углеводов с помощью механизмов мембранного пищеварения. Последнее является важным адаптационным приспособлением к условиям существования. Использование ферментов хозяина является достаточно выгодным для успешного функционирования цестод. Это тем более понятно, так как известно, что мембранное пищеварение имеет ряд серьезных преимуществ по сравнению с полостным. Конечные стадии гидролиза и начальные этапы всасывания осуществляются системами, локализованными на внешней поверхности мембраны энтероцитов и плазматической мембраны тегумента, в результате чего они максимально сближены в пространстве и времени. Вероятность всасывания мономеров, освобождающихся в процессе мембранного пищеварения, становится очень высокой (Никольский, 1977).

В то же время у изученных цестод установлено существование эффективных транспортных систем глюкозы, абсорбирующих ее активным путем. Установлена способность цестод аккумулировать глюкозу при использовании в качестве субстрата мальтозы и крахмала. Показано, что при низких концентрациях субстрата гельминты имеют большие преимущества для транспорта различных форм глюкозы, чем при высоких, что, возможно, является адаптацией к существованию в условиях недостаточного питания хозяина.

Важной адаптационной особенностью к условиям существования гельминтов, выявленной при сравнении интенсивности транспортных процессов у цестод и их хозяев — рыб, является преобладание у цестод активного компонента транспорта, в то время как в кишечнике рыб различные формы глюкозы поглощаются в основном посредством облегченной и простой диффузии. Полученные материалы подтверждают представление о том, что гельминты достаточно хорошо адаптированы к условиям питания. С одной стороны, они используют гидролитические ферменты хозяина, с другой — обладают транспортными системами, превосходящими по эффективности абсорбционные системы хозяев.

Список литературы

Аркинд М. В., Раева И. И. Мембранное (пристеночное) пищеварение у цестод // ЖЭБиФ. 1971. № 4. С. 375—379.

Извекова Г. И. Характеристика транспорта глюкозы у цестоды Eubothrium rugosum // Паразитология. 1988. Т. 22, вып. 3. С. 210—215.

Извекова Г. И., Кузьмина В. В. Сравнительная характеристика некоторых особенностей транспорта углеводов у цестод и в кишечнике их хозяев — рыб // Биол. внутр. вод. инф. бюл. 1988. № 79. С. 38—41.

Кузьмина В. В. Применение метода последовательной десорбции α-амилазы с отрезка кишки при изучении мембранного пищеварения у рыб // Вопр. ихтиол. 1976. Т. 16. В. 5. С. 944—946.

Кузьмина В. В. Общие закономерности мембранного пищеварения у рыб и его адаптивные перестройки: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Л., 1986. 36 с.

Кузьмина В. В., Голованова И. Л., Извекова Г. И. Особенности транспорта углеводов в кишечнике рыб // Мембр. пищев. и всасыв. Тез. 3-го Всесоюз. симпоз. Юрмала, 1986. С. 72—74.

Кузьмина В. В., Куперман Б. И. Сравнительная характеристика мембранного пищеварения у цестод и их хозяев — рыб // Паразитология. 1983. Т. 17, вып. 6. С. 436—442.

Куперман Б. И. Функциональная морфология низших цестод. Л.: Наука, 1988. 167 с.

Никольский Н. Н. Всасывание сахаров // Физиол. всасыв. Л.: Наука, 1977. С. 249—277.

Сопрунов Ф. Ф. Успехи в изучении углеводного обмена гельминтов // Тр. ГЕЛАН СССР. 1984. Т. 32. С. 121—154.

Уголев А. М. Пристеночное (контактное) пищеварение. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1963. 170 с.

Уголев А. М. Эволюция пищеварения и принципы эволюции функций. Л.: Наука, 1985. 544 с.

Уголев А. М., Иезуитова Н. Н. Определение активности инвертазы и других дисахаридаз // Исследование пищеварительного аппарата у человека (обзор соврем. методов). Л.: Наука, 1969. С. 192—196.

Уголев А. М., Иезуитова Н. Н. Мембранное пищеварение. Структурная и функциональная организация // Усп. физиол. наук. 1985. Т. 16, № 4. С. 3—34.

Mocsón T. Histochemical studies on the enzymes of Hymenolepis diminuta (Rud., 1819) (Cestoda). XI. Some Hydrolases of oligosaccharides in mature tapeworms // Acta parasit. pol. 1980. Vol. 27. P. 477—486.

Pappas P. W., Narcisi E. M. A comparison of membrane-bound enzymes of the isolated brush border plasma membranes of the cestodes Hymenolepis diminuta and Hymenolepis macrostoma // Parasitol. 1982. Vol. 84, N 2. P. 391—396.

Pappes P. W., Read C. P. Membrane transport in helminth parasites: A rewiev // Exp. Parasitol. 1975. Vol. 37, N 3. P 469—530.

Read C. P., Rothman A. H. The role of carbohydrates in the size of Hymenolepis diminuta // Exp. Parasitol. 1957. Vol. 6. P. 1—7.

Read C. P. Contact digestion in tapeworms // J. Parasitol. 1973. Vol. 59. P. 672—677.

Taylor E. W., Thomas J. N. Membrane (contact) digestion in the three species of tapeworm Hymenolepis diminuta, Hymenolepis macrostoma and Moniezia expansa // Parasitol. 1968. Vol. 58. P. 535—546.

Ward F. V. Aspect of helminth metabolism // Parasitol. 1982. Vol. 84, N 1. P. 177—194.

ИБВВ им. И. Д. Папанина АН СССР, Борок

Поступила 21.06.1990

HYDROLYSIS AND TRANSPORT OF CARBOHYDRATES BY THE CESTODE C. LATICEPS AND IN THE INTESTINE OF ITS HOST, BREAM

G. I. Izvekova, V. V. Kuzmina

Key words: amylolytic activity, transport, glucose, cestode, intestine

SUMMARY

A comparative study of hydrolysis and transport of carbohydrates by the cestode *C. laticeps* and in the intestine of its host, bream, has revealed a considerable influence of the host's enzymes on the characteristics of the parasite's enzyme system. The cestodes have been found to possess effective transport systems of glucose absorbing it in an active way while in the intestine of bream during the glucose absorption prevail the mechanisms of simple and easy diffusion.